

# デジタルバイオ融合科学研究

研究代表者 細川 正人

(先進理工学研究科 生命医科学専攻・共同先進健康科学専攻 准教授(任期付))

## 1. 研究課題

私達の身の回りに生息する微生物からは、産業用酵素・抗菌薬・抗がん剤・免疫抑制剤などの産業的・臨床的価値のある物質が発見されてきた。環境から単離されてきた微生物培養株は、微生物研究の基礎・産業への応用を担う重要な資源である。しかしながら現在、伝統的な微生物培養株を供給源とした生理活性物質の発見数が減少し、新規抗菌薬の開発などが進みにくい状況になっている。有用酵素や薬剤候補物等の供給を継続的に担保するためには、未だ分析されていない未培養微生物を探索する必要がある。

そこで本研究では、新規有用物質の探索と評価を効率的に循環させるための、生物情報資源利用プラットフォームを開発することを目的とする。本研究で開発する1細胞解析・合成生物学・バイオインフォマティクス技術群の統合により、「環境微生物群集から新規・有用種の存在・特性を検知し、そのデジタルゲノムデータを参照して理解・活用につなぐ」という研究プロセスを自在に設計し、次世代のバイオモノづくりに向けた情報・技術基盤を構築する。

## 2. 主な研究成果

今年度は、1細胞から完全長のゲノムを取得するプロトコル(学術論文 1)を開発し(Fig. 1)、ヒト腸内細菌から複数の完全長ゲノムを獲得できることを実証した。

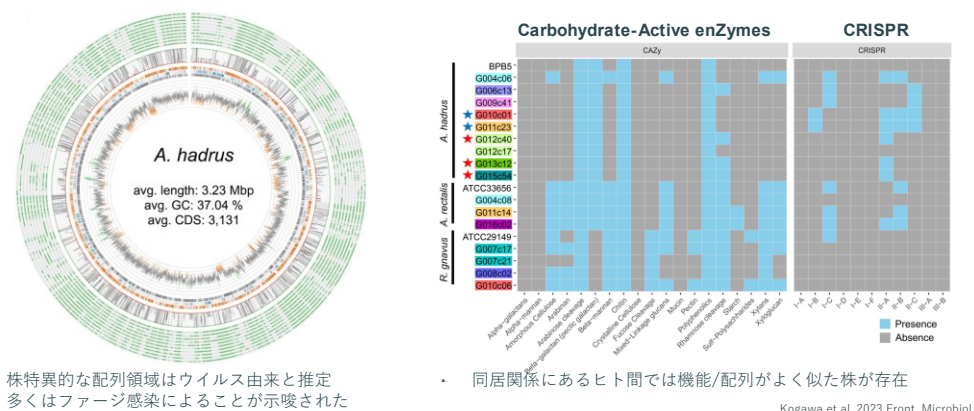


Fig.1 腸内細菌から取得した完全長1細胞ゲノムの解析事例

また、外部との共同研究として京都大学のグループと水田土壌細菌・アーキアのゲノム解析(学術論文 5)を報告した。これは世界で初めて、イネの根圏微生物叢のゲノム情報を1細胞レベルで網羅的に明らかにしたものである(京都大学プレスリリース <https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2022-11-09-0>)。このほか、国際連携として、サウジアラビア KAUST の

グループと紅海周辺の海水・海泥・土漠中の細菌・アーキアのゲノム解析事例(学術論文 7)やスイス ETH のグループとのシングルセルゲノム解析とラマン分光を組み合わせた環境微生物解析(学術論文 12)を論文報告した。

この他、2022 年より JST 創発型研究開発事業のプロジェクトがスタートした。修士学生 2 名が本研究には参画し、現在論文が 1 件受理済み 2023 年公開、もう 1 件が審査中の状況である。具体的には、当初計画にあるようなシングルセルゲノムライブラリに基づく物質精算プラットフォームの開発や微生物制御技術への活用を進めており、未培養微生物のゲノムから微生物制御に関する酵素遺伝子を探索し、人工発現することで特定の微生物の標識や単離に活用できる分子開発を行った。本研究の初期段階として、収集した未培養微生物ゲノムから、細菌に感染するウイルス(ファージ)に由来し細菌ゲノムに挿入された外来遺伝子を探索した。このファージ遺伝子には、感染宿主細菌を認識する特異的な分子がコードされている。この細菌認識分子を人工的に活用すれば、多様な微生物が存在する試料から、標的の細菌を戦略的に検出したり単離したりすることが可能になると考えた。これまでに、ヒト口腔内細菌のゲノムを収集し、レンサ球菌の一部の種を特異的に標識するファージ分子を複数種獲得することに成功した。実際に、唾液からレンサ球菌を検出し単離培養できることを実証した。その他、本開発に続いて微生物を対象とした 1 細胞トランスクリプトーム解析の開発も進め、学外研究者との共同研究を複数進めている。これまで進めてきた生体組織を対象とした遺伝子発現解析技術の応用についても複数の学術論文を報告した。以上より、本年度の研究計画は予定通り進行し、成果が得られている。

### 3. 共同研究者

竹山春子 (先進理工学部・生命医科学科・教授)、大島登志男 (先進理工学部・生命医科学科・教授)、佐藤政光 (先進理工学部・生命医科学科・教授)、仙波憲太郎 (先進理工学部・生命医科学科・教授)、由良敬 (先進理工学部・生命医科学科・教授(任期付))、西川洋平 (ナノ・ライフ創新研究機構 招聘研究員)、峯田克彦 (ナノ・ライフ創新研究機構・上級研究員(研究院教授))、松永浩子 (ナノ・ライフ創新研究機構・次席研究員(研究院講師))、角井康貢 (高等研究所・講師)、小川雅人 (ナノ・ライフ創新研究機構・客員次席研究員)

### 4. 研究業績

#### 4.1 学術論文

1. Revealing within-species diversity in uncultured human gut bacteria with single-cell long-read sequencing. Kogawa M, Nishikawa Y, Saeki T, Yoda T, Arikawa K, Takeyama H, Hosokawa M. *Front Microbiol.* 2023 Feb 24;14:1133917.
2. Targeted single-cell genomics reveals novel host adaptation strategies of the symbiotic bacteria *Endozoicomonas* in *Acropora tenuis* coral. Ide K, Nishikawa Y, Maruyama T, Tsukada Y, Kogawa M, Takeda H, Ito H, Wagatsuma R, Miyaoka R, Nakano Y, Kinjo K, Ito M, Hosokawa M, Yura K, Suda S, Takeyama H. *Microbiome.* 2022 Dec 12;10(1):220.
3. Integrated spatial analysis of gene mutation and gene expression for understanding tumor diversity in formalin-fixed paraffin-embedded lung adenocarcinoma. Yamazaki M, Hosokawa M, Matsunaga H, Arikawa K, Takamochi K, Suzuki K, Hayashi T, Kambara H, Takeyama H. *Front Oncol.* 2022 Nov 24;12:936190.
4. Reproducible and sensitive micro-tissue RNA sequencing from formalin-fixed paraffin-

- embedded tissues for spatial gene expression analysis. Matsunaga H, Arikawa K, Yamazaki M, Wagatsuma R, Ide K, Samuel AZ, Takamochi K, Suzuki K, Hayashi T, Hosokawa M, Kambara H, Takeyama H. *Sci Rep.* 2022 Nov 14;12(1):19511.
5. Massively parallel single-cell genomics of microbiomes in rice paddies. Aoki W, Kogawa M, Matsuda S, Matsubara K, Hirata S, Nishikawa Y, Hosokawa M, Takeyama H, Matoh T, Ueda M. *Front Microbiol.* 2022 Nov 3;13:1024640.
  6. Cancer Cachexia among Patients with Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer on Immunotherapy: An Observational Study with Exploratory Gut Microbiota Analysis. Hakozaki T, Nolin-Lapalme A, Kogawa M, Okuma Y, Nakamura S, Moreau-Amaru D, Tamura T, Hosomi Y, Takeyama H, Richard C, Hosokawa M, Routy B. *Cancers (Basel).* 2022 Nov 2;14(21):5405.
  7. Validation of the application of gel beads-based single-cell genome sequencing platform to soil and seawater Nishikawa Y, Kogawa M, Hosokawa M, Wagatsuma R, Mineta K, Takahashi K, Ide K, Yura K, Behzad H, Gojobori T, Takeyama H. *ISME Communications* 2(1) 2022 Sep
  8. Identification of lipolytic enzymes using high-throughput single-cell screening and sorting of a metagenomic library. Alma'abadi A, Behzad H, Alarawi M, Conchouso D, Saito Y, Hosokawa M, Nishikawa Y, Kogawa M, Takeyama H, Mineta K, Gojobori T. *N Biotechnol.* 2022 Sep 25;70:102-108.
  9. Exploring strain diversity of dominant human skin bacterial species using single-cell genome sequencing. Ide K, Saeki T, Arikawa K, Yoda T, Endoh T, Matsushashi A, Takeyama H, Hosokawa M. *Front Microbiol.* 2022 Aug 5;13:955404.
  10. Identification of two cancer stem cell-like populations in triple-negative breast cancer xenografts. Nakayama J, Matsunaga H, Arikawa K, Yoda T, Hosokawa M, Takeyama H, Yamamoto Y, Semba K. *Dis Model Mech.* 2022 Jun 1;15(6):dmm049538.
  11. Strain-level profiling of viable microbial community by selective single-cell genome sequencing. Hosokawa M, Endoh T, Kamata K, Arikawa K, Nishikawa Y, Kogawa M, Saeki T, Yoda T, Takeyama H. *Sci Rep.* 2022 Mar 15;12(1):4443.
  12. Single-cell metabolite detection and genomics reveals uncultivated talented producer. Kogawa M, Miyaoka R, Hemmerling F, Ando M, Yura K, Ide K, Nishikawa Y, Hosokawa M, Ise Y, Cahn JKB, Takada K, Matsunaga S, Mori T, Piel J, Takeyama H. *PNAS Nexus.* 2022 Mar 2;1(1):pgab007.

#### 4.2 総説・著書

1. 未培養微生物群集からの網羅的 1 細胞ゲノム解析法の開発、細川 正人、バイオサイエンスとインダストリー 80(4) 354-355 2022 年 7 月
2. 【臨床実装が進む 次世代がんバイオマーカー 新規の検出技術、AI が加速するリキッドバイオプシーとその先の診断モダリティ】(第 2 章)新たながん診断モダリティと検出技術 マイクロバイオームを利用したがん診断技術の開発動向、佐伯 達也, 笹倉 由貴江, 細川 正人、実験医学 40(10) 1529-1536 2022 年 6 月
3. 【若手研究者が拓くこれからの生物学(後編)】細菌叢のシングルセル解析、細川 正人、

#### 4.3 招待講演

1. 細川正人、微生物シングルセルゲノミクス：進歩と将来の展望、第 96 回日本細菌学会総会、2023 年 3 月 16 日
2. 細川 正人、高解像度ゲノム解析による腸内細菌叢機能の理解と活用、バイオ共創コンソーシアム 第 3 回会議、2022 年 11 月 15 日
3. Masahito Hosokawa、Obtaining complete genomes from uncultured human gut bacteria with single-cell long-read sequencing、International Human Microbiome Consortium 9th Congress 2022、2022 年 11 月 10 日
4. 細川正人、腸内細菌のシングルセル解析と微生物遺伝子の活用、第 22 回 日本抗加齢医学会総会 シンポジウム 11「腸内細菌 x 新テクノロジー」、2022 年 6 月 17 日
5. 細川正人、環境細菌の大規模シングルセルゲノミクスから その先へ、Visionary 農芸化学 100 シンポジウム 第 48 回 農芸化学「化学と生物」シンポジウム 微生物・バイオマス利用研究領域 第 3 回シンポジウム 微生物の共生・生態 ～世界は微生物で溢れている～、2022 年 5 月 21 日
6. Masahito Hosokawa、Single-cell genomics for uncultured animal gut microbes、12th Asian Symposium on Microbial Ecology、2022 年 4 月 19 日
7. 細川正人、大規模ゲノムデータによる未培養微生物資源の利用への道、バイオインダストリー奨励賞受賞者企画講演会「レッドバイオの新たな息吹 ～次世代創薬はじめ産業基盤の革新的変化をもたらすバイオ技術研究の最前線～」、2022 年 4 月 6 日

#### 4.4 受賞・表彰

2022 年 9 月経済産業大臣賞 大学発ベンチャー表彰 2022

#### 4.5 学会および社会的活動

日本生物工学会 代議員

日本化学会バイオテクノロジー部会 役員

### 5. 研究活動の課題と展望

ゲノムデータからバイオインフォマティクス技術を用いて、産業用途が想定される酵素を網羅的に探索し、それらをライブラリから選抜、PCR で増幅して異種で組み換え発現するという一連の物質生産プロセスを立ち上げた。現在本格活動を行うため、遺伝子組換え実験室を整備中である。今後は、構成員を増やし研究を強力的に推進する。